

## 別紙 診断基準

疾患名(日本語)：メンデル遺伝型マイコバクテリア易感染症

疾患名(英語)：Mendelian susceptibility to Mycobacterial infection; MSMD

OMIM 番号:	IL12RB1	AR	614891
	IL12B	AR	614890
	IFNGR1	AR	107470
	IFNGR1	AD	615978
	IFNGR2	AR	614889
	STAT1	AD	614892
	CYBB	XL	300645
	NEMO	XL	300248
	IRF8	AD	614893
	TYK2	AR	611521
	ISG15	AR	616126
	RORC	AR	602943

MSMD

ICD9 分類 288.2

ICD10 分類 D72

## 疾患概要

メンデル遺伝型マイコバクテリア易感染症(Mendelian susceptibility to Mycobacterial disease; MSMD)は、マイコバクテリア、サルモネラ、リステリア、レジオネラなどの細胞内寄生菌に対する易感染性を主徴とする原発性免疫不全症である。本症には常染色体劣性遺伝の9個、伴性劣性遺伝の2個の原因遺伝子が存在する。サイトカイン IFN $\gamma$  の産生が障害される疾患(IL12B, IL12RB1, TYK2, IRF8, ISG15, NEMO, RORC の遺伝子変異によるもの)と IFN $\gamma$  のシグナル伝達が障害される疾患(IFNGR1, IFNGR2, STAT1, CYBB の遺伝子変異によるもの)に大別され、遺伝子変異の検索が確定診断に重要である。

## 【診断方法】

### A. 臨床症状

#### 1. 易感染性

マイコバクテリア、サルモネラ、リステリア、レジオネラ、カンジダ、ヒストプラズマ、ノカルジアなどの各種の細胞内寄生細菌・真菌に対する易感染性を呈する。

### B. 検査所見

1. BCG や非定型抗酸菌感染症で発症する症例が多いが、サルモネラなどそれ以外の細胞内寄生菌感染症で発症する症例もある。多くは、細胞内寄生菌以外の菌に対しては易感染性を認めないが、STAT1 や TYK2 の遺伝子異常によるものではウイルスなどに対する易感染性を、IL-12RB1 や RORC の遺伝子異常によるものではカンジダに対する易感染性を合併する。

2. 一般的な血液学的・免疫学的検査では異常を認めない。

3. FACS による IFNGR1 の発現・IFN $\gamma$  に対する STAT1 のリン酸化、血中 IFN $\gamma$  濃度や試験管内での IFN $\gamma$  産生などの機能検査により、確定診断の重要な手掛かりを得られることがある。

4. *IL12B*, *IL12RB1*, *IFNGR1*, *IFNGR2*, *STAT1*, *CYBB*, *TYK2*, *IRF8*, *ISG15*, *NEMO*, *RORC* の遺伝子変異を検索することにより確定診断する。

### C. 補助条項

1. 慢性の発熱、肝脾腫、リンパ節腫脹、貧血等を主症状とし、細胞内寄生菌感染症の診断が

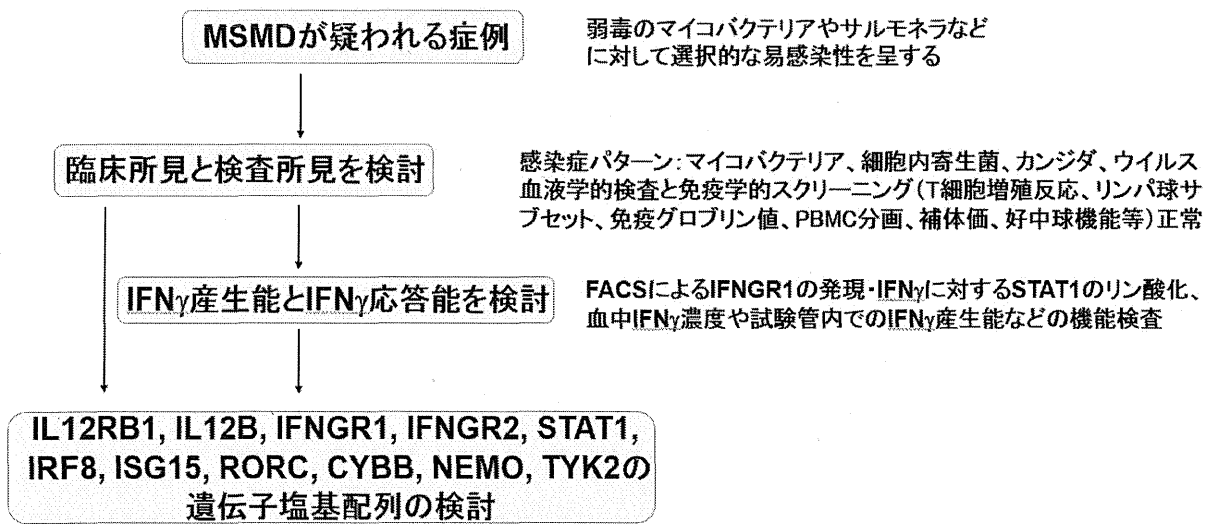
困難な症例があるので注意が必要である。

2. ランゲルハンス細胞組織球症との鑑別が必要なことがある。
3. IFN $\gamma$  に対する自己抗体が原因で、本症に類似した臨床像を呈することがある。

#### D. 診断の進め方 (フローチャート参照)

BCG 感染症や非定型抗酸菌症を中心とする細胞内寄生菌に対する易感染性を呈し、血液学的検査と免疫学的スクリーニング (T 細胞増殖反応、リンパ球サブセット、免疫グロブリン値、補体価、好中球機能等) で異常を認めない症例に *IL12B*, *IL12RB1*, *TYK2*, *IRF8*, *ISG15*, *NEMO*, *RORC*, *IFNGR1*, *IFNGR2*, *STAT1*, *CYBB* の遺伝子検査を行う。IFNGR1 の発現・IFN $\gamma$  に対する STAT1 のリン酸化・血中 IFN $\gamma$  濃度・試験管内での IFN $\gamma$  産生能などの機能検査により、確定診断の重要な手掛かりを得られることがある。

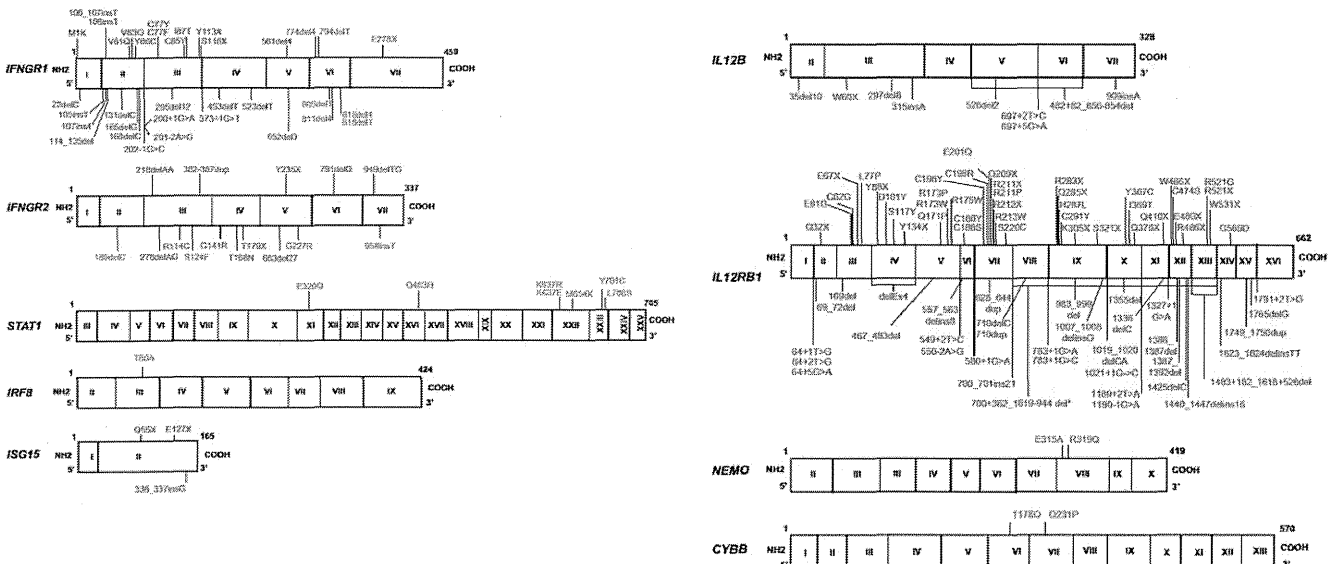
<MSMD の診断フローチャート>



#### E. 診断基準

特徴的な臨床症状により疑い、血液学的・免疫学的検査により除外診断し、遺伝子検査により確定診断する。

#### 既報告の MSMD の原因遺伝子変異



## 重症度分類：重症

IFNGR1 の完全欠損症は重症で、感染症のコントロールができた後も有効な抗生剤の継続投与が必要である。造血幹細胞移植が唯一の根治療法である。

## 文献

- 1) Newport MJ, Huxley CM, Huston S, et al. A mutation in the interferon-gamma-receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. *N Engl J Med* 1996; 335:1941.
- 2) Altare F, Jouanguy E, Lamhamedi-Cherradi S, et al. A causative relationship between mutant IFNGR1 alleles and impaired cellular response to IFN-gamma in a compound heterozygous child. *Am J Hum Genet* 1998;62:723.
- 3) Jouanguy E, Dupuis S, Pallier A, et al. In a novel form of IFN-gamma receptor 1 deficiency, cell surface receptors fail to bind IFN-gamma. *J Clin Invest* 2000; 105:1429.
- 4) Jouanguy E, Lamhamedi-Cherradi S, Lammas D, et al. A human IFNGR1 small deletion hotspot associated with dominant susceptibility to mycobacterial infection. *Nat Genet* 1999; 21:370
- 5) de Jong R, Altare F, Haagen IA, et al. Severe mycobacterial and Salmonella infections in interleukin-12 receptor-deficient patients. *Science* 1998; 280:1435.
- 6) Altare F, Durandy A, Lammas D, et al. Impairment of mycobacterial immunity in human interleukin-12 receptor deficiency. *Science* 1998; 280:1432.
- 7) Fieschi C, Dupuis S, Catherinot E, et al. Low penetrance, broad resistance, and favorable outcome of interleukin 12 receptor beta1 deficiency: medical and immunological implications. *J Exp Med* 2003; 197:527.
- 8) Altare F, Lammas D, Revy P, et al. Inherited interleukin 12 deficiency in a child with bacille Calmette-Guérin and Salmonella enteritidis disseminated infection. *J Clin Invest* 1998; 102:2035.
- 9) Hambleton S, Salem S, Bustamante J, et al. IRF8 mutations and human dendritic-cell immunodeficiency. *N Engl J Med* 2011; 365:127.
- 10) Bustamante J, Arias AA, Vogt G, et al. Germline CYBB mutations that selectively affect macrophages in kindreds with X-linked predisposition to tuberculous mycobacterial disease. *Nat Immunol* 2011; 12:213.
- 11) Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Abel L, Casanova JL. Mendelian susceptibility to mycobacterial disease: Genetic, immunological, and clinical features of inborn errors of IFN-g immunity. *Semin Immunol* 2014; 26:454
- 12) Kreins AY, Ciancanelli MJ, Okada S et al. Human TYK2 deficiency: Mycobacterial and viral infections without hyper-IgE syndrome. *J Exp Med* 2015; 212:1641
- 13) Okada S, Markle JG, Deenich EK et al., Immunodeficiencies. Impairment of immunity to *Candida* and *Mycobacterium* in humans with bi-allelic RORC mutations. *Science* 2015; 349:606

原発性食細胞機能不全症および欠損症  
「その他の白血球機能異常症」の診断基準作成について

八角高裕 (京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学)  
井澤和司 (京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学)  
河合朋樹 (京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学)  
西小森隆太 (京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学)  
平家俊男 (京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学)

研究要旨

原発性食細胞機能不全症及び欠損症には、好中球減少症・白血球接着不全症・メンデル型マイコバクテリア易感染症などが含まれるが、これらに分類されず、特徴的な臨床症状を呈する疾患として、GATA2 欠損症および CRF2RA 異常症が挙げられる。本研究では、この 2 疾患について、疾患概要・診断方法・重症度分類・文献についてまとめ、診断基準案を作成した。

A. 研究目的

原発性食細胞機能不全症及び欠損症に含まれるものの、好中球減少症・白血球接着不全症・メンデル型マイコバクテリア易感染症に分類されず、特徴的な臨床症状を呈する GATA2 欠損症と CRF2RA 異常症の 2 疾患について診断基準案を作成することを目的とする。

B. 研究方法

各々の疾患について、国内外で集積された知見をもとに診断基準案を作成した。

(倫理面への配慮)

本研究は、患者臨床情報や検体を取り扱うものではないため、特に倫理的な配慮を必要とするものではない。

C. 研究結果

GATA2 欠損症と CRF2RA 異常症の 2 疾患について、疾患概要・臨床症状・診断方法・重症度分類・参考文献について別紙の通りまとめた。

D. 考察

これまで、GATA2 欠損症と CRF2RA 異常症の 2 疾患に関する診断ガイドラインは存在せず、今回作成した案により本邦での診断例が増

え、疾患に関する更なる知見が集積されるものと期待される。又、診断の確定には現時点で保険適応外の検査が必要であるなど問題点も多く、今後の改定が必須であると思われる。

E. 結論

「その他の白血球機能異常症」に分類される疾患として、GATA2 欠損症と CRF2RA 異常症の診断基準案を作成した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 八角高裕、柴田洋史、下寺佐栄子、平家俊男、HLH 病態の多様性と治療戦略の展望. 臨床血液 56:2248-57.2015.

2) Oda H, Sato T, Kunishima S, Nakagawa K, Izawa K, Hiejima E, Kawai T, Yasumi T, Doi H, Katamura K, Numabe H, Okamoto S, Nakase H, Hijikata A, Ohara O, Suzuki H, Morisaki H, Morisaki T, Nunoi H, Hattori S, Nishikomori R, Heike T. Exon skipping causes atypical phenotypes associated with a loss-of-function mutation in FLNA by

restoring its protein function. *Eur J Hum Genet.* 2015 Jun 10. doi:10.1038/ejhg.2015.119.[Epub ahead of print]

- 3) Hiejima E, Kawai T, Nakase H, Tsuruyama T, Morimoto T, Yasumi T, Taga T, Kanegane H, Hori M, Ohmori K, Higuchi T, Matsuura M, Yoshino T, Ikeuchi H, Kawada K, Sakai Y, Kitazume MT, Hisamatsu T, Chiba T, Nishikomori R, Heike T. Reduced Numbers and Proapoptotic Features of Mucosal-associated Invariant T Cells as a Characteristic Finding in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 21:1529-40.2015.
- 4) Yasumi T, Hori M, Hiejima E, Shibata H, Izawa K, Oda H, Yoshioka K, Nakagawa K, Kawai T, Nishikomori R, Ohara O, Heike T. Laboratory parameters identify familial haemophagocytic lymphohistiocytosis from other forms of paediatric haemophagocytosis. *Br J Haematol.* 170:532-8.2015.

## 2. 学会発表

- 1) CD57+ CTL degranulation and Munc13-4 protein expression assays are sensitive and reliable screening methods for FHL3. Kikuya A, Hori M, Yasumi T, Hiejima E, Shibata H, Izawa K, Oda H, Nishikomori R, Ohara O, Heike T. ASPR2015.
- 2) *Stenotrophomonas maltophilia*敗血症、間質性肺炎、及び好酸球増多を合併し、原発性免疫不全症の疑われる男児例 芝剛、八角高裕、仁平寛士、本田吉孝、柴田洋史、小田紘嗣、中川権史、井澤和司、河合朋樹、西小森隆太、深澤陽平、吉田忍、小原收、平家俊男 第9回日本免疫不全症研究会各術集会.
- 3) UNC13D遺伝子のexon duplicationによる家族性血球貪食性リンパ組織球症3型

の1例 日衛嶋栄太郎、柴田洋史、井澤和司、河合朋樹、八角高裕、西小森隆太、松岡正樹、小嶋靖子、小原明、小田紘嗣、小原收、平家俊男 第9回日本免疫不全症研究会各術集会.

## H. 知的財産権の出願・登録状況 無し

自然免疫異常

自然免疫不全症の診断基準の作成

石村匡崇<sup>1</sup>、高田英俊<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>九州大学大学院医学研究院成長発達医学 <sup>2</sup>九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学

研究要旨

自然免疫不全症のうち、MyD88 (Myeloid differentiation primary response gene 88) 欠損症の診断基準を作成した。MyD88 欠損症の臨床像は、Interleukin-1 receptor-associated kinase 4 (IRAK4) 欠損症と同様であり、また臨床像や通常の臨床検査では区別できないことから、IRAK4 欠損症に準じて作成した。Toll-like receptor からのシグナル伝達異常のある疾患の場合、フローサイトメーターを用いた LPS 刺激後の単球内 TNF- $\alpha$  産生能を迅速診断法として取り入れた。MyD88 欠損症では、疾患特異的な臨床症状や検査所見がなく、診断には遺伝子診断が重要な位置を占める。

A. 研究目的

2015 年の International Union of Immunological Societies (IUIS) の分類では、自然免疫不全症には、1. Mendelian susceptibility to mycobacterial disease、2. 疣贅状表皮発育異常症、3. Wart hypogammaglobulinemia immunodeficiency myelokathexis (WHIM) 症候群、4. 重症ウイルス感染症、5. ヘルペス脳炎、6. CARD9 欠損症、7. 慢性皮膚粘膜カンジダ症、8. TLR シグナル伝達欠損 (IRAK4 欠損症、MyD88 欠損症)、9. Isolated asplenia、10. Trypanosomiasis の 10 疾患が分類されている。これらの疾患の診断は臨床像や臨床検査所見のみでは困難なことが少なくない。また、早期診断が患者の予後や QOL に影響することも知られている。このなかで MyD88 欠損症の病態を基盤とした診断基準を作成した。

B. 研究方法

MyD88 欠損症の臨床像と臨床検査結果、分子生物学的病態や遺伝的背景を考慮して診断基準、診断フローチャートを作成した。

C. 研究結果

実際の診断フローチャートを別紙に示す。

MyD88 欠損症は常染色体劣性遺伝形式をとる。獲得免疫が未熟な時期である乳幼児期に、

侵襲性細菌感染症に罹患しやすく、死亡率も高い。MyD88 欠損症は、IRAK4 欠損症同様に、Toll-like receptor (TLR) や IL-1R などからの細胞内シグナル伝達障害がおこり、肺炎球菌などに対する自然免疫機能が欠損する。

乳幼児期から化膿性髄膜炎、敗血症、関節炎/骨髄炎、深部組織膿瘍などの重症ないわゆる侵襲性細菌感染症がおこりやすい。化膿性髄膜炎などの重症感染症を繰り返す場合も少なくない。さらに早期から適切な治療をしているにも関わらず、急速に進行し、救命できない例もみられる。起炎菌は肺炎球菌、ブドウ球菌、緑膿菌、溶血性連鎖球菌の 4 菌種がほとんどを占め、特に肺炎球菌感染症は 40% を占める。他方、易感染症はしだいに軽くなり、8 歳以降の感染症での死亡や 14 歳以降での重症感染症はないと報告されている。

2010 年の Picard らによる国際共同研究結果の報告以降、22 名以上の患者が登録されているが、国内からの報告はまだない。

MyD88 欠損症と IRAK4 欠損症は、基本的には同じ病態であり、病態が類似し、臨床上一区別できないとされている。

上記起炎菌による侵襲性細菌感染症を呈し、家族歴がある場合、急速に進行した場合、繰り返した場合には、低ガンマグロブリン血症や無脾症あるいは好中球異常によるものを鑑別する必要がある。末梢血を用いた

迅速スクリーニング法は IRAK4 欠損症と同様に有用であると考えられる。

IRAK4 欠損症では臍帯脱落遅延がおこるが、MyD88 欠損症では明確には記載されたものがない。しかし、この2つの疾患は基本的に同じ病態であると考えられるため MyD88 欠損症でも臍帯脱落遅延はおこるものと考えられる。

確定診断は、遺伝子検査で確認された場合とした。即ち診断基準を以下に示す。

診断基準：MyD88 欠損症は、TLR や IL-1R などからの細胞内シグナル伝達が障害されることに起因する侵襲性細菌感染症を特徴とする疾患であり、遺伝子検査で MyD88 の機能喪失型変異が確認された場合に MyD88 と診断する。

#### D. 考察

自然免疫不全症はまれな疾患である。また自然免疫不全症では、一般臨床検査、臨床免疫学的検査だけでは確定診断できない場合が多い。免疫学的病態を基盤とした迅速診断・スクリーニング検査、遺伝子検査を組み合わせることで診断することが重要である。

#### E. 結論

MyD88 欠損症の診断基準を作成した。今後、症例を蓄積し、海外の報告も参考にしながら、妥当性を検討していきたい。特に、臍帯脱落遅延、迅速診断法の有用性については、今後確認が必要である。

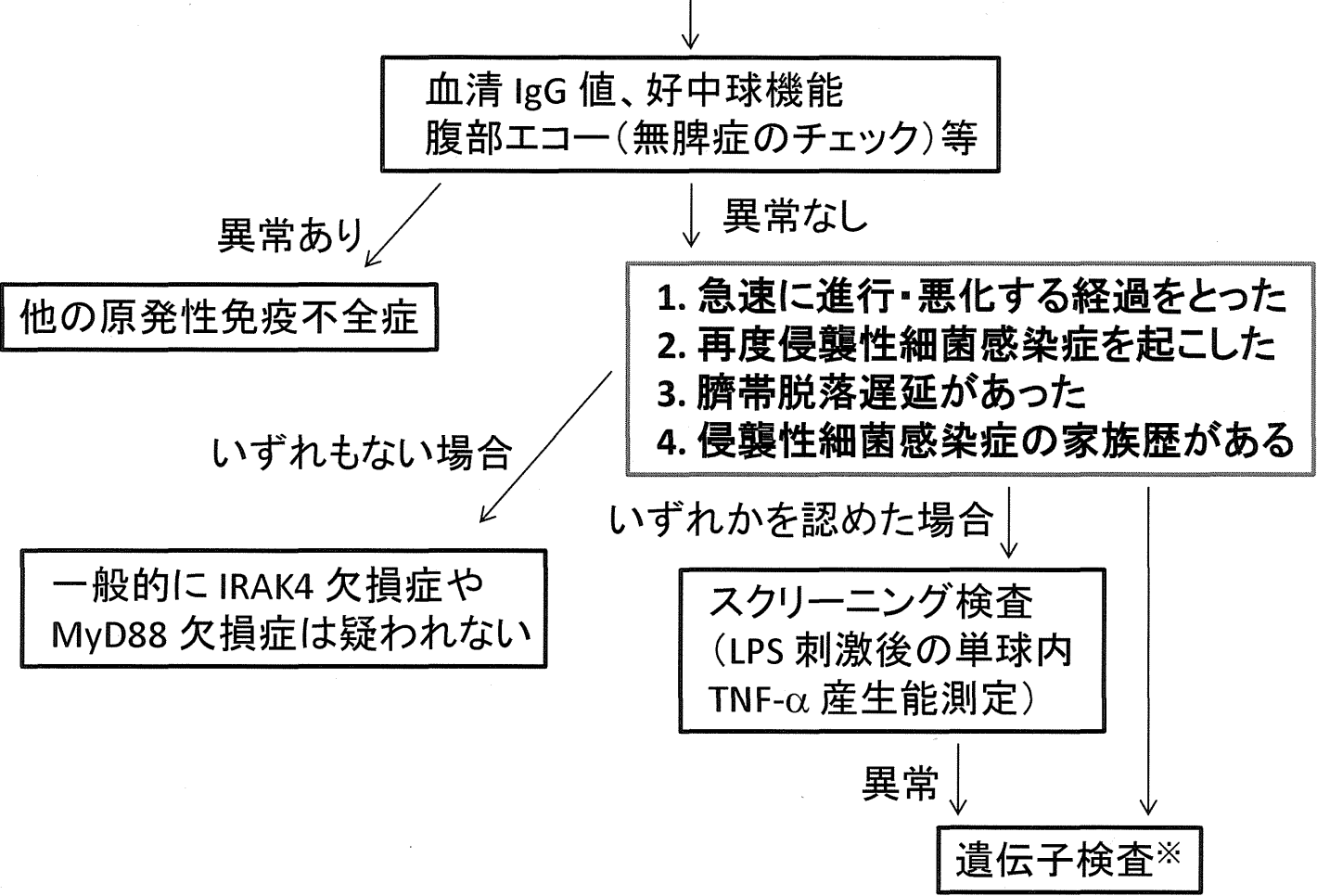
#### F. 研究発表

当研究に直接関連した発表はない。

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

無し。

乳幼児期の侵襲性細菌感染症(化膿性髄膜炎、敗血症、関節炎、深部膿瘍など)  
(特に、肺炎球菌、ブドウ球菌、緑膿菌、溶血連鎖球菌によるもの)



\*IRAK4 欠損症、MyD88 欠損症、外胚葉形成不全免疫不全症候群関連の遺伝子検査を行う。



## 自然免疫異常

### その他の自然免疫不全症の診断基準・診断フローチャートの策定に関する研究

研究分担者 加藤 善一郎 岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 教授  
研究協力者 大西 秀典 岐阜大学医学部附属病院小児科  
金子 英雄 国立病院機構長良医療センター臨床研究部

#### 研究要旨

自然免疫異常による免疫不全症は、抗体産生能の欠損等が主症状である獲得免疫の異常とは異なり、主に病原体が生体内に侵入した際に通常発現すべきサイトカインネットワークの障害に起因して引き起こされる免疫不全症の総称である。代表的な疾患として IRAK4 欠損症では、Toll 様受容体による病原体分子パターンの認識により誘導される炎症性サイトカイン産生が障害されている。本研究では、主にウイルス感染症に対して易感染性を示す自然免疫異常の診断基準について作成した。対象とした疾患は、(家族性)単純ヘルペス脳炎、重症ウイルス感染症を示す免疫不全症(常染色体劣性遺伝 STAT1 欠損症, STAT2 欠損症, IRF7 欠損症, CD16 欠損症, MCM4 欠損症)、HPV 易感染症(疣贅状表皮発育異常症, WHIM 症候群)である。これらに加え、診断基準未策定の自然免疫不全症である、トリパノソーマ病、孤立性無脾症についても策定した。

#### A. 研究目的

原発性免疫不全症の分類のうち、“自然免疫不全症”に含まれる6疾患、(家族性)単純ヘルペス脳炎、重症ウイルス感染症を示す免疫不全症、WHIM 症候群、疣贅状表皮発育異常症、トリパノソーマ病、孤立性無脾症について診断基準及び診断フローチャートの作成を行った。

#### B. 研究方法

WHIM 症候群、疣贅状表皮発育異常症を除く4疾患については、責任遺伝子の同定が比較的最近であり、ほとんどが少数例の報告しか存在しないため、基本的には原著英語論文を参照し、臨床症状、検査所見、責任遺伝子情報を抽出し作成した。

#### C. 研究結果

各疾患の診断基準及び診断フローチャートを参照。

#### D. 考察

2015 年に発表された IUIS の原発性免疫不全症の分類では、(家族性)ヘルペス脳炎の責任遺伝子として *UNC93B1*, *TLR3*, *TRAF3*, *TRIF*, *TBK1* の 5 遺伝子が掲載されているが、2015 年に新たに *IRF3* が報告されたため診断基準に追加している。本疾患の病因は主に中枢神経系における TLR3 シグナル伝達経路の異常に起因すると想定されているが、既知疾患では皮膚線維芽細胞からの HSV-1 刺激により誘導される I 型 IFN 産生が低下することが知られており、ヘルペス脳炎罹患患者で前述の 6 遺伝子に新規変異が同定された場合、また病的変異が同定されない場合も含め、患者皮膚線維芽細胞を使用した検討が必要になる可能性がある。またヘルペス脳炎罹患患者全体では TLR3 シグナル伝達経路の遺伝子異常が発見される可能性は高くないことにも留意する。

重症ウイルス感染症を示す免疫不全症には、2013 年(2014 年)に発表された IUIS の原発性免疫不全症の分類では、MCM4 欠損症が含まれていたが、2015 年度版では”免疫不全を伴う特

徴的な症候群”に移動されている。今回の診断基準策定においては、MCM4 欠損症も含めて作成した。また IUIS 分類では STAT2 欠損症と病因が共通であり、弱毒麻疹ウイルス接種後に重症ウイルス感染をきたす疾患として IFNAR2 欠損症が 2015 年度に報告されているため、これも追加している。乳幼児期に重症ウイルス感染を示し、免疫不全症が疑われた場合、重症複合免疫不全症の場合、診断・治療を迅速に行わなければならないため、診断フローチャート上、優先的に鑑別するよう上位に記載している。

WHIM 症候群は、疣贅状表皮発育異常症 (EV) と同様に HPV に易感染性を示す疾患であるが、EV とは異なりコマーシャルベースの検査で異常(好中球減少、免疫グロブリン低下、骨髄でミエロカテキシス)を認め、HPV 以外の病原細菌に対しても易感染性を示す点に留意する必要がある。

トリパノソーマ病は、一般にヒトには病原性を有さないとされるトリパノソーマ原虫群による感染症を起こす遺伝性疾患であり、ヒトに病原性を有するトリパノソーマ原虫群による感染(アフリカ睡眠病、シャーガス病)は除外される。

孤立性無脾症は、IRAK4 欠損症と同様に化膿性細菌に対して易感染性を示すが、LPS 応答性は正常である。超音波検査等の画像検査で診断されるが、先天性心疾患等の他の内臓奇形を合併するものは除外される点に留意が必要である。

## E. 結論

その他の自然免疫不全症(単純ヘルペス脳炎、重症ウイルス感染症を示す免疫不全症、WHIM 症候群、疣贅状表皮発育異常症、トリパノソーマ病、孤立性先天性無脾症)について診断基準及び診断フローチャートを策定した。

## F. 研究発表

当研究に直接関連した発表はない。

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得  
特になし

2. 実用新案登録  
特になし

3. その他  
特になし

先天性補体欠損症  
「先天性補体欠損症ならびに遺伝性血管性浮腫」の診断基準の作成について

研究協力者 堀内 孝彦 九州大学病院別府病院 免疫・血液・代謝内科

### 研究要旨

補体は30余りの分子によって構成されており、1) 前期反応成分、2) 後期反応成分、3) 補体制御因子ならびに補体受容体に分類される。1) と2) は直接補体活性化のカスケードに関わる分子群である。先天性の欠損によって細菌へ易感染性になるとともに1) では自己免疫疾患を併発する場合がある。一方、3) の欠損症はそれぞれの分子の機能不全に起因した病態を呈し、遺伝性血管性浮腫、非典型的溶血性尿毒症候群、加齢黄斑変性、発作性夜間血色素尿症など多岐にわたる疾患を招来する。

この中から、1) と2) の先天性欠損を先天性補体欠損症として統合して断基準を作成する。また遺伝性血管性浮腫は近年治療法が進歩しているが、わが国ではその実態が不明であり臨床試験も遅れている。私どもが一般社団法人日本補体学会と連携して2011年に開始した患者レジストリーをもとに遺伝性血管性浮腫の診断基準を作成する。

### A. 研究目的

本研究では先天性補体欠損症ならびに遺伝性血管性浮腫について、その診断基準を策定し、ガイドラインとして提供することが目的である。

### B. 研究方法

今回、先天性補体欠損症として検討した補体成分は、補体活性化のカスケードに関わる前期補体成分、後期補体成分の欠損症である。これら経路の先天性欠損によって、細菌に対する易感染性が生じるとともに全身性エリテマトーデス (SLE) などの自己免疫疾患を併発する場合がある。過去の文献や自験例を参考に診断基準案を作成した。

また遺伝性血管性浮腫は、さまざまな部位に突発性の浮腫を生じる。補体C1インヒビター(C1-INH)欠損によって生じる症例とそれ以外の原因で生じる症例がある。われわれが設立したNPO法人 血管性浮腫情報センタ

ー (<http://create2011.jp/index.html>)が一般社団法人日本補体学会と連携して運営している患者レジストリーに登録された患者情報に基づいて診断基準案を作成した。なお補体遺伝子異常は、MLPA、PCR-SSCP、direct sequencingなどの方法を用いて解析した。

(倫理面への配慮)

遺伝子診断や責任遺伝子産物解析等にあたっては、各種臨床研究指針や遺伝子解析に関わる指針を遵守して、患者への説明と同意

の下に実施した。本研究についてはまた、九州大学倫理審査委員会及び、遺伝子解析に関わる倫理審査委員会の承認を得て実施した。

### C. 研究結果

#### 先天補体欠損症

1) 臨床症状  
一部の例外を除き、常染色体劣勢の遺伝形式をとる。

1. 易感染性  
細菌感染症を繰り返す。とくに後期補体成分 (C5、C6、C7、C8、C9) 欠損症、第二経路 (B、D、P因子) 欠損症では、髄膜炎菌、淋菌などのNeisseria属の細菌に感染しやすい。

2. 免疫複合体病  
古典経路に属するC1、C4、C2などの欠損症では全身性エリテマトーデス (SLE) などの免疫複合体病をしばしば合併する。

#### 2) 検査所見

1. 古典経路、後期補体成分の欠損では、血清補体価 (CH50) は感度以下まで低下する。ただしC9欠損症は例外であり、正常値の25~40%程度の値を示す。

2. 第二経路、レクチン経路の欠損症ではCH50は正常である。

3. ACH50は第二経路の欠損症では低下する。

4. 各補体成分の遺伝子変異 (ホモ接合体あるいは複合ヘテロ接合体) を認める。

### 3) 除外基準

1. Cold activation: 試験管内でのartifactとして補体が活性化されCH50が低下する。EDTA採血では正常化する。
2. 免疫複合体病: SLEなどの自己免疫疾患、低補体血症性蕁麻疹様血管炎、クリオグロブリン血症性血管炎、悪性関節リウマチ
3. 急性糸球体腎炎
4. 肝硬変

### 4) 診断基準

CH50、C3、C4を用いてのスクリーニングが実用的である。下記の1. 2. がある場合、除外基準の疾患を除外したうえで、3. を施行する。

1. CH50が著しく低下している。
2. 発端者が小児期から感染症を繰り返している。
3. 各成分のタンパク濃度の測定を行う。低下を確認すれば、家族内での常染色体劣性遺伝形式であることを証明する。
4. タンパクが低下した成分について遺伝子解析を行い、遺伝子異常を同定できれば診断は確定的である。
5. なお第二経路、レクチン経路の欠損症はCH50では検出できないが、前者ではACH50が低下している。

## 遺伝性血管性浮腫

### 1) 臨床症状

症状は24時間で最大となり数日で自然に消褪する。わが国ではほとんどがC1-INH遺伝子異常であり、常染色体優性遺伝形式をとるが、一部孤発例もある。

1. 皮下浮腫、粘膜下浮腫: とくに眼瞼、口唇、四肢に生じやすく、non-pitting edemaである。
2. 消化器症状: 腹痛、嘔気、嘔吐、下痢
3. 喉頭浮腫: 窒息で死亡することがある。

### 2) 検査所見

補体C4は発作時にはほぼ100%低下、非発作時でも98%で低下

1. CH50も低下しているが、補体C3は正常である。
2. C1-INH活性は50%未満であるが、多くは25%以下まで低下している。
3. C1-INHタンパク定量も低下していればI型HAE、タンパク量は正常であればII型HAEと診断する。II型HAEはC1-INHタンパクの機能異常である。
4. *SERPING1*遺伝子のヘテロ変異を認める。ただし遺伝性血管性浮腫の中でC1-INHに異常を認めない場合、III型HAEと診断される。

### 3) 除外基準

1. 後天性血管性浮腫
2. アレルギー性血管性浮腫
3. アンギオテンシン変換酵素阻害薬による血管性浮腫
4. 物理的刺激による血管性浮腫
5. 好酸球増多をともなう好酸球性血管性浮腫 (Gleich's syndrome)
6. 特発性血管性浮腫

### 4) 診断基準

1. 突発性の浮腫
2. 補体C4、C1-INH活性が低下
3. 家族歴  
の3つがあればHAE I型、II型と診断できる。  
1. と3. のみの場合、HAE III型の可能性がある。  
4. 確定診断のためには、*SERPING1*遺伝子の異常の同定が望ましい。HAE III型の一部では凝固第XII因子の遺伝子異常が報告されているが、わが国での報告はない。

## D. 考察

先天性補体欠損症は希な疾患であるが、とくに小児の再発性感染症の鑑別疾患として重要である。2015年4月以降補体の詳細な検査を施行できる施設がなくなったことは問題であり、タンパクレベル、遺伝子レベルで解析する方法の確立が必要である。

遺伝性血管性浮腫は、わが国での実態が不明であったが、現在全国レベルで患者レジストリーが進んでいる。今後、患者の臨床所見、遺伝子異常などの集計をさらに進めて、本研究へと還元したい。

## E. 結論

先天性補体欠損症ならびに遺伝性血管性浮腫の診断及び重症度判定のためのガイドライン策定を行った。

## F. 研究発表

1. 論文発表  
1) Horiuchi T: The ABC of angioedema: Ace inhibitor, Bradykinin, and C1-inhibitor are critical players. Intern. Med. 54(20):2535-2536, 2015 (Editorial)
2. 学会発表  
なし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## 原発性免疫不全症“ICF 症候群”の原因遺伝子の同定

研究分担者 高田 英俊 九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学 教授  
研究協力者 伊藤 雄哉 九州大学生体防御医学研究所ゲノム制御学部門  
エピゲノム制御学分野 大学院生

### 研究要旨

ICF (Immunodeficiency, Centromeric instability, and Facial anomaly) 症候群は原発性免疫不全症候群に分類される稀な常染色体劣性遺伝病で、患者は成熟 B 細胞を有さず低  $\gamma$  グロブリン血症を呈し、重症感染症に繰り返し罹患する。ICF 症候群はエピジェネティクス関連疾患であり、セントロメア近傍の反復配列 (サテライト 2・3) の DNA メチル化の低下と、それに伴うヘテロクロマチン構造の不安定性に起因する染色体構造異常を特徴とする。ICF 症候群の約半数を占める 1 型 ICF 症候群の原因遺伝子は *de novo* DNA メチル化酵素 *DNMT3B* である。*DNMT3B* に変異を持たない ICF 症候群はサテライト 2・3 の DNA メチル化の低下に加えて、セントロメアの  $\alpha$  サテライト領域の DNA メチル化の低下を合併する。このような ICF 症候群の約半数の原因遺伝子として *ZBTB24* (2 型 ICF 症候群) が同定されていたが、残りの約半数で原因遺伝子が未同定であったため、我々はそれらの原因遺伝子が未同定の患者でエキソーム解析を行い、5 人で *CDCA7* (3 型 ICF 症候群) を、さらに 5 人で *HELLS* (4 型 ICF 症候群) を原因遺伝子として同定した。(Thijssen, *et al.*, Nat. Commun. (2015))。同定された遺伝子はマウス胎仔線維芽細胞で DNA メチル化の維持に関与していた。本研究により、ICF 症候群の原因遺伝子は 90% 以上の患者で同定することが出来るようになった。

### A. 研究目的

原発性免疫不全症で、エピジェネティクス関連疾患である ICF 症候群は稀な常染色体劣性遺伝病である。患者は低・無  $\gamma$  グロブリン血症を呈す免疫不全、染色体の不安定性、顔貌異常を特徴とする。ICF 症候群はサテライト近傍のサテライト 2・3 の DNA メチル化の低下と、それに伴う 1・9・16 番染色体のヘテロクロマチン領域の不安定性に起因する染色体構造異常により診断することが出来る。ICF 症候群の約半数は DNA メチル化酵素である *DNMT3B* に変異を持つ。*DNMT3B* に変異を持たない ICF 患者は、 $\alpha$  サテライトの DNA メチル化の低下を呈する。それらの患者の半数で、機能未

知だが、血球の分化を調整する ZBTB タンパクファミリーに属する *ZBTB24* が原因遺伝子として同定されたが、残り半数では原因遺伝子は同定されていなかった。我々はそれらの患者の原因遺伝子を同定することで、ICF 症候群の診断を確実なものとし、さらにそれらの遺伝子の機能を解析することで、免疫不全症とエピジェネティックな制御機構を解明することを目標とした。

### B. 研究方法

ICF 症候群の特徴を有し、サテライト 2・3 と  $\alpha$  サテライトの DNA メチル化の低下を呈する ICF 症候群患者で、原因遺伝子の同定され

ていない13人のICF患者のサンプルを用いた。

各患者の genomic DNA を 500ng 用い、SureSelect Human All Exon V5 kit で DNA ライブラリーを作製した。シーケンシングを Illumina HiSeq2500 で行い 100bp の paired-end reads でデータ解析を行った。Read データは Burrows-Wheeler Alignment tool (BWA v0.7.4) で reference human genome (UCSC hg19) にマッピングした。重複リードを Picard (v1.87) で除去し、Genome Analysis Toolkit (GATK v2.5-2) を用いて、SNV と Indel をコールした。Annotate Variation (ANNOVAR) でアノテーションを行った。患者に近親婚の情報がある、または示唆される患者がいたことから、Homozygosity mapping の手法を用いた。SNV、Indel の中で、ホモ接合性領域が連続する領域内に存在する非同義アミノ酸置換を引き起こすホモ接合性のものを抜き出し、それらの中でアレル頻度が1%以下のもの、または新規のものを抜き出した。出てきた遺伝子の中で、患者間で共通の遺伝子に変異をもつものを同定した。

同定した遺伝子変異については、PCR を使って Sanger シーケンスで確認した。

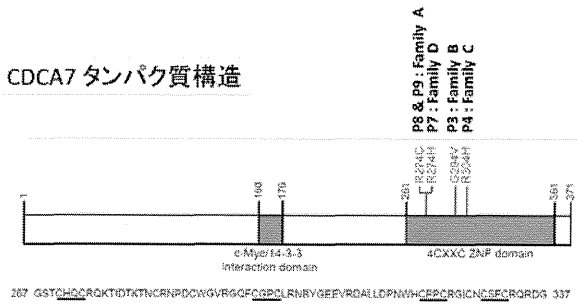
(倫理面への配慮)

全患者サンプルは採取後、匿名化され処理された。患者またはその保護者に遺伝的解析の説明を行い、同意を得た。当研究は九州大学のヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会及び、Leiden 大学医療倫理委員会の承認を得て行われた。

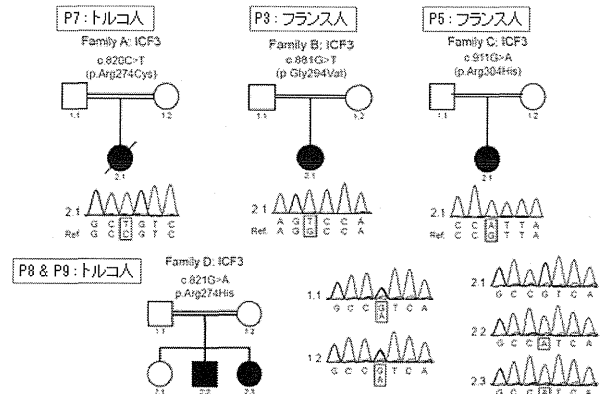
### C. 研究結果

エキソーム解析に Homozygosity mapping の手法を用いて、ICF 症候群の新規原因遺伝子として4家系5人の患者で CDCA7 に遺伝子変異を、4家系5人の患者で HELLS に遺伝子変異を同定した。

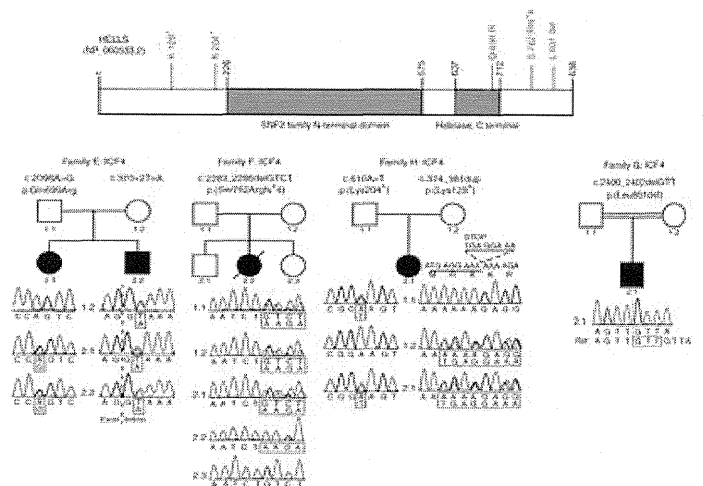
### CDCA7 タンパク質構造



### 4家系5患者の CDCA7 変異 (ICF3)



### HELLS タンパク質における変異カ所および4家系5患者の HELLS 変異 (ICF3)



CDCA7 の変異はすべてホモ接合性のミスセンス変異で、4-CXXC のモチーフをもつ Zinc Finger ドメインの中に変異を認めた。HELLS の変異は3人の複合ヘテロ変異と2人のホモ接合性変異を認め、変異の起こった場所は様々であった。

我々は CDCA7 に変異を持つ患者を3型 ICF 症候群、HELLS に変異を持つ患者4型 ICF

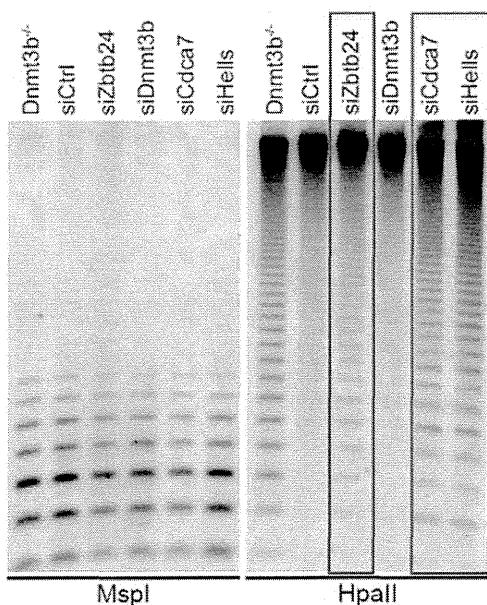
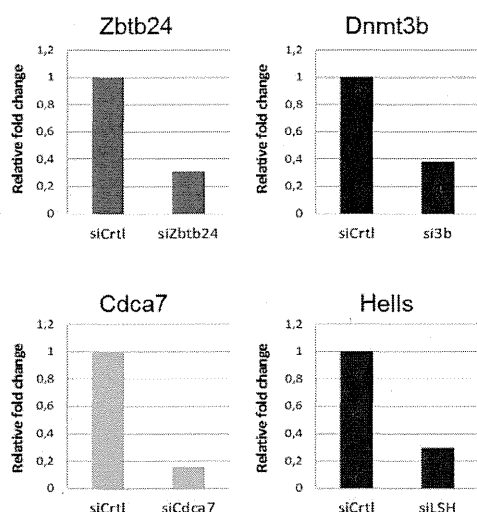
症候群として報告した。

この結果により、90%以上の ICF 症候群の患者の原因遺伝子を同定することが出来た。

ICF 症候群の分類	1型	2型	3型	4型	不明
原因遺伝子	<i>DNMT3B</i>	<i>ZBTB24</i>	<i>CDCA7</i>	<i>HELLS</i>	unknown
報告されている患者数	23	13	5	5	3
サテライト2,3のメチル化	低下	低下	低下	低下	低下
$\alpha$ -サテライトのメチル化	正常	低下	低下	低下	低下

同定したこれらの遺伝子をマウス胎仔線維芽細胞において siRNA を用いてノックダウンすると、セントロメア領域のマイナーサテライトにおいて、DNA メチル化の低下を認めた。

### マウス胎仔線維芽細胞における ICF 症候群の原因遺伝子のノックダウンとサザン法による DNA メチル化解析



### D. 考察

3 型 ICF 症候群の原因遺伝子の *CDCA7* は腫瘍形成や MYC 依存性のアポトーシス、造血幹細胞の出現に関わることが知られていたが、エピジェネティックな機能は知られていない。一方、4 型 ICF 症候群の原因遺伝子の *HELLS* はシロイヌナズナのオルソログである *DDM1* の変異体で Transposable element の DNA メチル化が低下すること、*HELLS* のノックアウトマウスにおいて、セントロメアの反復配列を含むゲノム全体の DNA メチル化が低下することが報告されていた。本研究で *CDCA7* と *HELLS* が ICF 症候群の原因遺伝子として同定され、DNA メチル化の維持に関与していることが示された。今後これらの遺伝子の機能をさらに解明することで、DNA のメチル化と免疫不全症の関係に重要な示唆が得られる。また、まだ少数の患者で原因遺伝子がされていないため、これらの患者の原因遺伝子が同定されれば、ICF 症候群の病態解明、治療に向けて手がかりが得られる。

### E. 結論

ICF 症候群の新規原因遺伝子として *CDCA7* と *HELLS* の 2 つの遺伝子を同定した。マウス胎仔線維芽細胞におけるノックダウン実験により、これらの遺伝子が DNA メチル化の維持に関与していることがわかった。

本実験により 90%以上の ICF 患者の原因遺伝子が同定できた。このことは原発性免疫不全症の早期診断、治療介入に有用である。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Thijssen, P. E. et al. Mutations in *CDCA7* and *HELLS* cause immunodeficiency, centromeric instability, facial anomalies syndrome. *Nat. Commun.*6:7870 doi: 10.1038/ncomms8870 (2015).

## 2. 学会発表

- 1) 2014年11月20・21日 第59回日本人類遺伝学会 ポスター発表。
- 2) 2015年5月25日 第9回日本エピジェネティクス研究会年回 ショートトーク。
- 3) 2015年10月15・16日 第60回日本人類遺伝学会 ポスター発表。

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

特になし



## PTEN 異常による免疫不全症について

研究代表者 野々山 恵章 防衛医科大学校小児科学講座  
研究協力者 関中 佳奈子 防衛医科大学校小児科学講座

### 研究要旨

Activated PI3K-delta Syndrome (APDS)は、近年報告された原発性免疫不全症で、*PIK3CD*、*PIK3RI* が責任遺伝子として報告されている。今回我々は、新たに、*PTEN*機能喪失変異が APDS を引き起こしうることを証明した。

### A. 研究目的

我々は複合型免疫不全症を呈する患者のエクソーム解析の結果から、PTEN 異常による原発性免疫不全症を世界で初めて同定した。本疾患における PI3K/Akt/mTOR シグナル伝達の異常と抗体産生不全・T細胞機能異常を含めた免疫不全症発症との関わりを明らかにし、迅速な診断及び適切な治療法を開発することを目的とする。

### B. 研究方法

APDS様の臨床症状を呈し、エクソーム解析によりPTEN変異を同定した患児2名に加えて、PTEN変異によるCowden症候群父子の計4例のPTEN異常症患者でAkt/mTOR/S6シグナル伝達解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究内容については、防衛医科大学校倫理審査委員会の承認を得ている。

### C. 研究結果

APDS様の免疫不全症状を呈した2例では、リンパ球減少、 $\gamma$ グロブリン値の異常、リンパ球FACS解析の異常など、APDS患者と多くの共通点を認めた。

活性化Tリンパ球でのAkt/mTOR/S6解析では、PTEN異常症患者4名全例で、リン酸化亢進を認めた。

### D. 考察

PTEN異常症患者の中でも免疫不全症状は様々であり、免疫不全症発症の機序については

さらに検討が必要である。

### E. 結論

*PTEN*機能喪失変異は、リンパ球におけるAkt/mTOR/S6リン酸化亢進を引き起こし、APDS様の臨床症状を呈したことから、*PTEN*はAPDSの新しい責任遺伝子となり得ることが示された。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) PTEN Mutation Can Cause Activated PI3 Kinase Delta Syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 (revised manuscript 投稿中).

2) Activated PI3K- $\delta$  syndrome患者の臨床的・免疫学的特徴;日本臨床免疫学会会誌、37巻、350、2014年.

#### 2. 学会発表

なし

### G. 知的財産権の出願・登録状況

#### 1. 特許取得

該当なし

#### 2. 実用新案登録

該当なし

#### 3. その他

該当なし

## フローサイトメトリーを用いた APDS の診断

研究分担者 小林 正夫 (広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学)

**研究要旨:** 近年、Class I PI3 キナーゼ (PI3K) に属する触媒サブユニット p110  $\delta$  (責任遺伝子 *PIK3CD*)、調節サブユニット p85  $\alpha$  (責任遺伝子 *PIK3R1*) の各遺伝子変異による新しい原発性免疫不全症として、APDS/APDS2 (以下 APDSs) が報告された。APDSs は反復性気道感染、リンパ節過形成、抗体産生不全、EBV/ CMV に対する易感染性といった同様の臨床症状を特徴とする。

APDSs では PI3K-AKT-mTOR シグナル経路の過剰な活性化が病態に関与する。フローサイトメトリーを用いた末梢血リンパ球解析では、患者末梢血 B 細胞 (CD19+) は定常状態において健常者に比して AKT のリン酸化が有意に亢進していたが、p110  $\delta$  阻害薬処理後では患者と健常者の間にリン酸化の差は認められなかった。末梢血 T 細胞 (CD3+)、NK 細胞 (CD16+CD56+)、単球 (CD14+) では定常状態、p110  $\delta$  阻害薬処理後のいずれの状態でもリン酸化の差は明らかではなかった。さらに、APDSs において特徴的な transitional B 細胞の増加に着目し、CD19+CD10+ immature B 細胞における AKT のリン酸化を解析することでさらに正確な患者の層別化が可能となることが明らかとなった。

本結果から、患者末梢血 B 細胞を用いた AKT の過剰リン酸化を同定することで、APDSs の迅速診断が可能となると考えられた。本疾患は近年報告された新しい免疫不全症であり、CVID や高 IgM 症候群と診断されている患者の中に未診断例が潜在している可能性が高いと考えられる。それらの早期診断は早期治療介入に繋がるだけでなく、未だ原因が不明である APDSs が免疫不全を引き起こす分子基盤の解明にも寄与する可能性もある。

### A. 研究目的

APDS (activated PI3K  $\delta$  syndrome) は、反復呼吸感染、進行性気道障害、リンパ球減少、抗体産生不全、EBV・CMV に対する易感染性を特徴とする原発性免疫不全症である。Class I PI3 キナーゼに属する触媒サブユニット p110  $\delta$  (責任遺伝子 *PIK3CD*) の機能獲得型変異により発症し、2013 年に発見されて以降、既に 40 症例以上の APDS 患者が本邦で同定されている。さらに、APDS に類似した原発性免疫不全症 (APDS2) が、p110  $\delta$  と 2 量体を形成する調節サブユニット p85  $\alpha$  (責任遺伝子 *PIK3R1*) のヘテロ接合性変異で発症することが報

告され、本邦では現在 5 例の患者が同定されている。また、PI3K-AKT シグナル経路における脱リン酸化酵素である PTEN (責任遺伝子 *PTEN*) の機能喪失型変異による PTEN 異常症も APDS の類縁疾患と考えられている。

APDS/APDS2 は、臨床症状の類似性から高 IgM 症候群や分類不能型免疫不全症 (CVID) と診断されることも多く、誤診例、潜在的な未診断症例が多数存在すると考えられる。APDS/APDS2 患者の適切な診断を目的に、フローサイトメトリーを用いた迅速診断法の確立を試みる。

## B. 研究方法

APDSsではPI3Kが過剰に活性化され下流の分子であるAKTが過剰に活性化されることが知られている。APDSs患者、健常者、CVID患者(disease control)由来末梢血単核球における細胞内AKTのリン酸化をフローサイトメトリーを用いて検討した。CD3陽性T細胞、CD19陽性B細胞、CD16陽性CD56陽性NK細胞、CD14陽性単球、各細胞群における検討を行った。AKTのリン酸化は、定常状態とp110 $\delta$ 阻害薬処理後の2条件で比較検討を行った。

## C. 研究結果と考察

図1(右上)にAPDS2患者における各細胞群におけるAKTのリン酸化解析の結果を示す。患者CD19陽性B細胞での検討では、定常状態で健常者に比してAKTのリン酸化が優位に亢進しているのに対して、阻害薬処理後では健常者と比してリン酸化の差を認めなかった。disease controlとして行ったCVID患者のCD19陽性B細胞を用いた検討では健常者と同様にAKTのリン酸化亢進は認めなかった。その他の細胞分画における検討では、健常者と患者におけるAKTのリン酸化の差異は認めなかった。

図2にAPDS2患者4例のCD19陽性B細胞を用いたフローサイトメトリーでのAKTリン酸化解析結果を示す。患者末梢血CD19陽性細胞は定常状態においてAKTのリン酸化が健常者に比して有意に亢進するが、阻害薬処理後には患者と健常者のリン酸化の差は認めなくなることが示された。ここから定常状態と阻害薬処理後のMFIの差( $\Delta$ MFI)が重要であると考えられた。

図2: APDS2におけるAKTリン酸化解析結果のまとめ

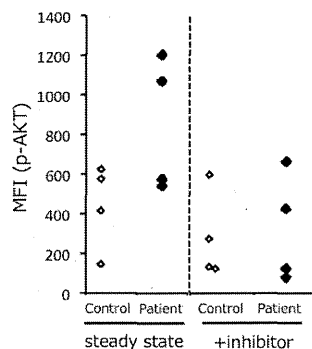


図1: 各細胞分画におけるAKTリン酸化の比較

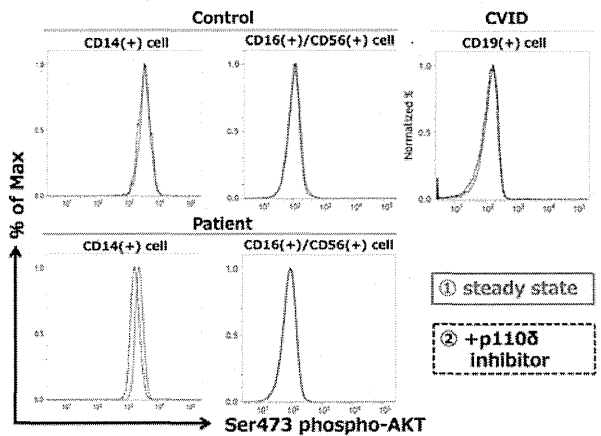
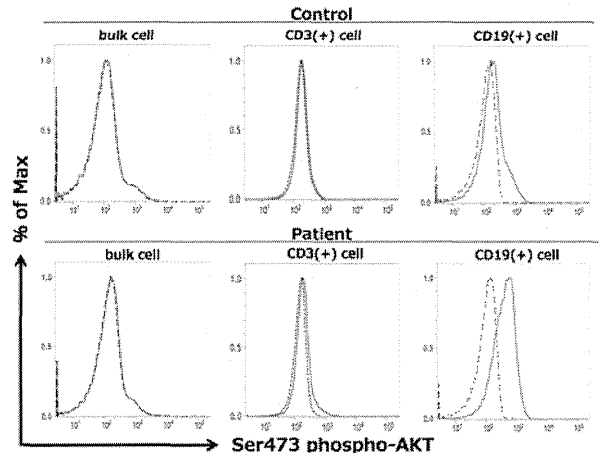
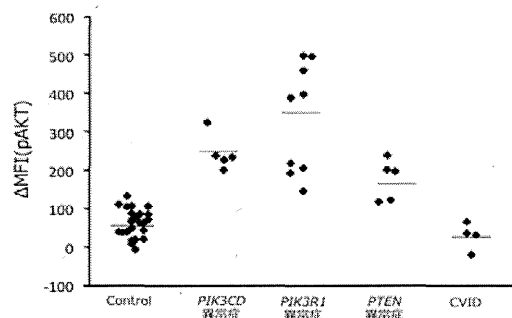


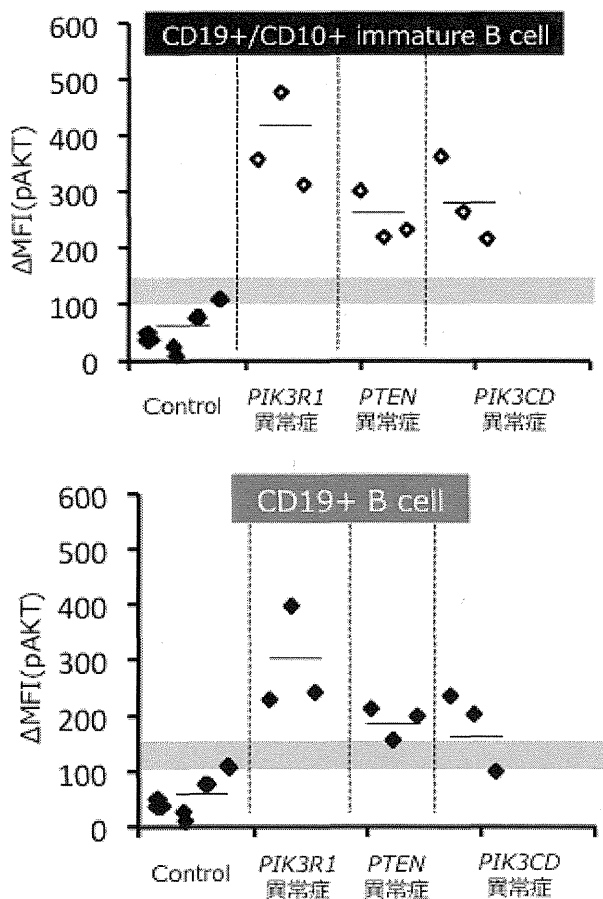
図3にPI3K異常症(APDS(4例)、APDS2(4例)、PTEN異常症(4例))におけるAKTリン酸化の $\Delta$ MFIを用いた検討のまとめを示す。患者では健常者、CVID患者に比して $\Delta$ MFIが有意に高いことが示された。ここからフローサイトメトリーを用いてCD19陽性B細胞にてAKTリン酸化解析を行うことでAPDSsの診断が可能となると考えられた。

図3: PI3K異常症におけるAKTリン酸化のまとめ



しかし、一部偽陰性となる例も認められたことから、より精度を高め、さらなる層別化が可能となるか検討した。そこで APDSs では transitional B 細胞が増加するという特徴に着目し、CD19 陽性 CD10 陽性 immature B 細胞分画 (transitional B 細胞に相当)、CD19 陽性 CD10 陰性 mature B 細胞分画における AKT リン酸化の比較検討を行った。結果を図 4 に示す。CD19 陽性 CD10 陽性 immature B 細胞分画では、その他の分画に比して患者において顕著に AKT のリン酸化が亢進することが示された。CD10 を用いた解析を行うことで、前述法で偽陰性となる患者についても正しく層別化できることが示され、より精度の高い診断が可能となると考えられた。

図 4 : CD10 を用いた AKT リン酸化解析



#### D. 結論

APDS は、CD19 陽性 B 細胞における AKT のリン

酸化をフローサイトメトリーで検討することから診断が可能となる。本方法を用いることで、新規発症症例の診断が可能となると同時に、CVID や高 IgM 症候群などの中に現在潜在している患者のスクリーニングが可能となる。また、APDS の免疫学的特徴に着目した検討を行うことでさらに精度の高い診断が可能となる。

また本方法に関し今後さらなる解析をすすめることで、APDS の分子病態のさらなる解明に繋がることも期待される。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Hayakawa S, Okada S, Tsumura M, Sakata S, Ueno Y, Imai K, Morio T, Ohara O, Chayama K, Kobayashi M: A patient with CTLA-4 haploinsufficiency presenting gastric cancer. *J Clin Immunol* 36: 28-32, 2016.
- 2) Narita A, Muramatsu H, Sekiya Y, Okuno Y, Sakaguchi H, Nishio N, Yoshida N, Wang X, Xu Y, Kawashima N, Doisaki S, Hama A, Takahashi Y, Kudo K, Moritake H, Kobayashi M, Kobayashi R, Ito E, Yabe H, Ohga S, Ohara A, Kojima S; Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and telomere length predicts response to immunosuppressive therapy in pediatric aplastic anemia. *Haematologica* 100: 1546-52, 2015.
- 3) Ma CS, Wong N, Rao G, Avery DT, Torpy J, Hambridge T, Bustamante J, Okada S, Stoddard JL, Deenick EK, Pelham SJ, Payne K, Boisson-Dupuis S, Puel A, Kobayashi M, Arkwright PD, Kilic SS, El Baghdadi J, Nonoyama S, Minegishi Y, Mahdavian SA, Mansouri D, Bousfiha A, Blincoe AK, French